

Curriculum Vitae

INFORMAZIONI PERSONALI

Nome DANIELA
Cognome CARLISI
Recapiti Sezione di Biochimica del Dipartimento BioNeC (presso il Policlinico Universitario)
Telefono 328-8110319
E-mail daniela.carlisi@unipa.it

FORMAZIONE TITOLI

Luglio 1995 Diploma Maturità scientifica, Liceo "Leonardo", Agrigento.

19 Dicembre 2002 Si laurea in Scienze Biologiche presso l'Università degli Studi di Palermo

Ott 2002-Sett 2003 Risulta vincitrice di un contratto di prestazione d'opera in qualità di tutor presso lo sportello di orientamento della Facoltà di Scienze MM.FF.NN, Università di Palermo.

Giugno 2003 Si abilita alla professione di biologo.

2004/2006 Ammessa al Dottorato di Ricerca in Oncobiologia Sperimentale, sviluppa presso la Sezione di Scienze Biochimiche un progetto di tesi dal titolo: "*Effetto apoptotico indotto dal SAHA, un inibitore delle deacetilasi istoniche, in cellule di epatoma umano in coltura. Effetto sinergico tra SAHA e bortezomib*", tutor la Prof.ssa Marianna Lauricella, Associato di Biochimica presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia.

17 Aprile 2007 Ottiene il titolo di Dottore di Ricerca in Oncobiologia Sperimentale.

15/06/07-15/06/09 Risulta vincitrice di un assegno di ricerca MIUR per lo sviluppo di un progetto di ricerca dal titolo: "*Effetti degli inibitori delle deacetilasi istoniche su cellule tumorali*".

11/08/09-11/08/11 Rinnovo dell'assegno di ricerca MIUR sopra indicato.

19/12/11-19/12/13 Risulta vincitrice di un assegno di ricerca MIUR per lo sviluppo di un progetto di ricerca dal titolo: "*Studi sugli effetti del Partenolide in campo oncologico*".

~~Prof.ssa Lorenza~~ 23069428016 Rinnovo dell'assegno di ricerca MIUR sopra indicato. Referente la

01/07/2016 Ricercatore a tempo determinato SSD Bio10 presso il Dpt BiONec dell'Università degli Studi di Palermo

ATTIVITA' DIDATTICA

A.A. 2001-02 e 02-03 Attività teorico-pratica prevista nel modulo di "Biochimica", nell'ambito dell'insegnamento "Laboratorio di Biologia Sperimentale II", Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Facoltà di Scienze MM.FF. NN. dell'Università degli Studi di Palermo.

A.A. 2002-03 Attività teorico-pratica prevista nel modulo di "Biochimica" nell'ambito dell'insegnamento "Laboratorio Multidisciplinare", Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Facoltà di Scienze MM.FF. NN. dell'Università degli Studi di Palermo.

A.A. 2003-04 Attività teorico-pratica prevista nel modulo di "Biochimica" nell'ambito dell'insegnamento di "Laboratorio di Biochimica Molecolare", Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Facoltà di Scienze MM.FF. NN. dell'Università degli Studi di Palermo.

A.A. 2003-04 Attività teorico-pratica prevista nel modulo di "Biochimica" nell'ambito dell'insegnamento di "Laboratorio Multidisciplinare", Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Facoltà di Scienze MM.FF. NN. dell'Università degli Studi di Palermo.

A.A. dal 2003-04 al 09-10 Attività teorico-pratica nell'ambito dell'insegnamento di "Biochimica", Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia, sede di Palermo.

A.A. 2005-2006 Attività didattica integrativa per l'insegnamento di "Biologia Molecolare", Corso di laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico, Facoltà di Medicina Chirurgia di Palermo.

A.A. 2009-2010 Attività teorico-pratica nell'ambito dell'insegnamento di "Biochimica", Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia, sede di Caltanissetta.

A.A. 2009-10 Attività teorico-pratica prevista nel modulo “Risposte Biochimiche a Fattori Ambientali” nell’ambito dell’insegnamento di “Ecologia Sperimentale”, Corso di Laurea Specialistica in Biodiversità ed Evoluzione Animale, Facoltà di Scienze MM.FF. NN. dell’Università degli Studi di Palermo.

A.A. 2012-13 Attività teorico-pratica nell’ambito dell’insegnamento di “Metodologie Biochimiche”, Corso di Laurea Magistrale in Biologia Cellulare e Molecolare, Facoltà di Scienze MM.FF. NN. dell’Università degli Studi di Palermo.

A.A. 2012-13 Cultore di Biochimica, Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia, dell’Università degli Studi di Palermo.

A.A. 2015-16 e 16-17 Attività didattica per l’insegnamento del modulo di “Biochimica” nell’ambito del C.I. di Fisica Biochimica Biologia applicata e Genetica del Corso di Laurea in Logopedia, presso la sede di Palermo.

RICERCHE FINANZIATE

La Dott.ssa Carlisi negli anni ha collaborato, come componente, ai seguenti progetti di ricerca finanziati dal MURST (ex 60%):

2004. “Effetti indotti dall’anandamide in cellule epatiche immortalizzate Chang Liver” (ORPA043878); responsabile la Prof.ssa Michela Giuliano.

2005. “Induzione di apoptosi in cellule di epatoblastoma umano HepG2. Azione sinergica del SAHA e del bortezomib; ruolo della via estrinseca dell’apoptosi e di Bcl-Xs” (ORPA052475); responsabile il Prof. Giovanni Tesoriere.

2006. “La proteina del retinoblastoma e l’apoptosi indotta dagli inibitori delle deacetilasi istoniche in cellule tumorali in coltura” (ORPA06YWY7); responsabile la Prof.ssa Marianna Lauricella.

2006. “Acetilazione di p53 e degli istoni nell’apoptosi indotta dagli inibitori delle deacetilasi istoniche in cellule tumorali umane” (ORPA06YNZB); responsabile il Prof. Giovanni Tesoriere.

2007. "Ruolo di Par-4 nell'attivazione della via apoptotica indotta dal segnale TRAIL" (ORPA07NACJ); responsabile la Prof.ssa Marianna Lauricella.

2007. "Sensibilizzazione di cellule tumorali al segnale TRAIL. Ruolo di NFkB e AKT" (ORPA07XPW8); responsabile il Prof. Giovanni Tesoriere.

2012. "Cellule di carcinoma mammario non endocrino-responsive. Uno studio in vitro e in vivo del loro comportamento e degli effetti di farmaci anticancerosi (2012-ATE-0122); responsabile la Prof.ssa Renza Vento.

La Dott.ssa Carlisi ha, inoltre, collaborato come componente al Progetto innovativo d'Ateneo dell'Università degli Studi di Palermo:

2007. "Sensibilizzazione al segnale apoptotico TRAIL determinata da inibitori delle deacetilasi istoniche e da cannabinoidi in cellule tumorali. Possibile nuova strategia nella cura dei tumori", responsabile il Prof. Giovanni Tesoriere.

La Dott.ssa Carlisi, inoltre, collabora come componente al Progetto Italia-Malta 2007-2013 dell'Università degli Studi di Palermo:

20013. "Italia Malta Genome Breast Cancer Cross Border Risk Surveillance", responsabile la Prof.ssa Renza Vento.

PUBBLICAZIONE

1. **Carlisi D**, Buttitta G, Di Fiore R, Scerri C, Drago-Ferrante R, Vento R, Tesoriere G. [Parthenolide and DMAPT exert cytotoxic effects on breast cancer stem-like cells by inducing oxidative stress, mitochondrial dysfunction and necrosis](#). *Cell Death Dis.* 2016; 14;7:e2194. doi: 10.1038/cddis.2016.94. Impact Factor: 5.014
2. Di Fiore R, Drago-Ferrante R, Pentimalli F, Di Marzo D, Forte IM, **Carlisi D**, De Blasio A, Tesoriere G, Giordano A, Vento R. Let-7d miRNA shows both antioncogenic and oncogenic functions in osteosarcoma-derived 3AB-OS cancer stem cells. *J Cell Physiol.* 2016;231:1832-41. doi: 10.1002/jcp.25291.. ISSN: 1097-4652 (Online). Impact Factor: 3.839.
3. De Blasio A, Di Fiore R, **Carlisi D**, Drago-Ferrante R, Montalbano M, Scerri C, Tesoriere G, Vento R. Unusual roles of caspase-8 in triple negative breast cancer cell line MDA-MB-231. *Int J Oncol.* 2016;48:2339-48. doi: 10.3892/ijo. ISSN: 1019-6439 (Print) 1791-2423 (Online). Impact Factor: 3.03.
4. **Carlisi D**, Lauricella M, D'Anneo A, Buttitta G, Emanuele S, di Fiore R, Martinez R, Rolfo C, Vento R, Tesoriere G. The synergistic effect of SAHA and parthenolide in MDA-MB231 breast cancer cells. *J Cell Physiol.* 2015;230:1276-89. doi: 10.1002/jcp.24863. ISSN: 1097-4652 (Online). Impact Factor: 3.839.
5. Di Fiore R, Drago-Ferrante R, Pentimalli F, Di Marzo D, Forte IM, D'Anneo A, **Carlisi D**, De Blasio A, Giuliano M, Tesoriere G, Giordano A, Vento R. MicroRNA-29b-1 impairs in vitro cell proliferation, self renewal and chemoresistance of human osteosarcoma 3AB-OS cancer stem cells. *Int J Oncol.* 2014;45:2013-23. doi: 10.3892/ijo.2014.2618. ISSN: 1097-4652 (Online). Impact Factor: 3.03.
6. **Carlisi D**, D'Anneo A, Martinez R, Emanuele S, Buttitta G, Di Fiore R, Vento R, Tesoriere G, Lauricella M. The oxygen radicals involved in the toxicity induced by parthenolide in MDA-MB-231 cells. *Oncol Rep.* 2014;32:167-72. doi: 10.3892/or.2014.3212. 1021-335X (Print), 1791-2431 (Online). Impact Factor: 2.301.
7. Di Fiore R, Marcatti M, Drago-Ferrante R, D'Anneo A, Giuliano M, **Carlisi D**, De Blasio A, Querques F, Pastore L, Tesoriere G, Vento R. Mutant p53 gain of function can be at the root of dedifferentiation of human osteosarcoma MG63 cells into 3AB-OS cancer stem cells. *Bone.* 2014;60:198-212. doi: 10.1016/j.bone.2013.12.021. ISSN: 8756-3282. Impact Factor: 3.973.

8. Maggio B, Raffa D, Raimondi MV, Cusimano MG, Plescia F, Cascioferro S, Cancemi G, Lauricella M, **Carlisi D**, Daidone G. [Synthesis and antiproliferative activity of new derivatives containing the polycyclic system 5,7:7,13-dimethanopyrazolo\[3,4-b\]pyrazolo\[3',4':2,3\]azepino\[4,5-f\]azocine](#). *Eur J Med Chem*. 2014;72:1-9. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.11.016. ISSN: 0223-5234. Impact Factor: 3.447.
9. D'Anneo A*, **Carlisi D***, Lauricella M, Puleio R, Martinez R, Di Bella S, Di Marco P, Emanuele S, Di Fiore R, Guercio A, Vento R, Tesoriere G. Parthenolide generates reactive oxygen species and autophagy in MDA-MB231 cells. A soluble parthenolide analogue inhibits tumour growth and metastasis in a xenograft model of breast cancer. *Cell Death Dis*. 2013;4:e891. doi: 10.1038/cddis.2013.415. ISSN: 2041-4889 (Online). Impact Factor: 5.014. *These authors contributed equally to this work, these authors shared first authorship.
10. Di Fiore R, Drago-Ferrante R, D'Anneo A, De Blasio A, Santulli A, Messina C, **Carlisi D**, Tesoriere G, Vento R. Differentiation of human osteosarcoma 3AB-OS stem-like cells in derivatives of the three primary germ layers as a useful in vitro model to develop several purposes. *Stem Cell Discovery*. 2013; 3:188-201.
11. D'Anneo A, **Carlisi D**, Emanuele S, Buttitta G, Di Fiore R, Vento R, Tesoriere G, Lauricella M. Parthenolide induces superoxide anion production by stimulating EGF receptor in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Int J Oncol*. 2013;43:1895-900. doi: 10.3892/ijo.2013.2137. ISSN: 1019-6439 (Print) 1791-2423 (Online). Impact Factor: 3.03.
12. Di Fiore R, Drago-Ferrante R, D'Anneo A, Augello G, **Carlisi D**, De Blasio A, Giuliano M, Tesoriere G, Vento R. In human retinoblastoma Y79 cells okadaic acid-parthenolide co-treatment induces synergistic apoptotic effects, with PTEN as a key player. *Cancer Biol Ther*. 2013;14:922-31. doi: 10.4161/cbt.25944. ISSN: 1538-4047 (Print) 1555-8576 (Online). Impact Factor: 3.072.
13. Di Fiore R, Guercio A, Puleio R, Di Marco P, Drago-Ferrante R, D'Anneo A, De Blasio A, **Carlisi D**, Di Bella S, Pentimalli F, Forte IM, Giordano A, Tesoriere G, Vento R. Modeling human osteosarcoma in mice through 3AB-OS cancer stem cell xenografts. *J Cell Biochem*. 2012;113:3380-92. doi: 10.1002/jcb.24214. ISSN: 1097-4644. Impact Factor: 3.263.
14. D'Anneo A, **Carlisi D**, Lauricella M, Emanuele S, Di Fiore R, Vento R, Tesoriere G. Parthenolide induces caspase-independent and AIF-mediated cell death in human osteosarcoma and melanoma cells. *J Cell Physiol*. 2013;228:952-67. doi: 10.1002/jcp.24131. ISSN: 1097-4652 (Online). Impact Factor: 3.839.
15. Lauricella M, Ciralo A, **Carlisi D**, Vento R, Tesoriere G. SAHA/TRAIL combination induces detachment and anoikis of MDA-MB231 and MCF-7 breast cancer cells. *Biochimie*. 2012;94:287-99. doi: 10.1016/j.biochi.2011.06.031. ISSN: 0300-9084. Impact Factor: 2.963.
16. **Carlisi D**, D'Anneo A, Angileri L, Lauricella M, Emanuele S, Santulli A, Vento R, Tesoriere G. Parthenolide sensitizes hepatocellular carcinoma cells to TRAIL by inducing the expression of death receptors through inhibition of STAT3 activation. *J Cell Physiol*. 2011;226:1632-41. doi: 10.1002/jcp.22494. ISSN: 1097-4652 (Online). Impact Factor: 3.839.
17. **Carlisi D**, Lauricella M, D'Anneo A, Emanuele S, Angileri L, Di Fazio P, Santulli A, Vento R, Tesoriere G. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid sensitises human hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis by TRAIL-DISC activation. *Eur J Cancer*. 2009;45:2425-38. doi: 10.1016/j.ejca.2009.06.024. ISSN: 0959-8049. Impact Factor: 5.417.
18. **Carlisi D**, Vassallo B, Lauricella M, Emanuele S, D'Anneo A, Di Leonardo E, Di Fazio P, Vento R, Tesoriere G. Histone deacetylase inhibitors induce in human hepatoma HepG2 cells acetylation of p53 and histones in correlation with apoptotic effects. *Int J Oncol*. 2008;32:177-84. ISSN: 1019-6439 (Print) 1791-2423 (Online). Impact Factor: 3.03.
19. Emanuele S, Lauricella M, **Carlisi D**, Vassallo B, D'Anneo A, Di Fazio P, Vento R, Tesoriere G. SAHA induces apoptosis in hepatoma cells and synergistically interacts with the proteasome inhibitor Bortezomib. *Apoptosis*. 2007;12:1327-38. ISSN: 1360-8185 (Print) 1573-675X (Online). Impact Factor: 3.685.
20. Giuliano M, Calvaruso G, Pellerito O, Portanova P, **Carlisi D**, Vento R, Tesoriere G. Anandamide-induced apoptosis in Chang liver cells involves ceramide and JNK/AP-1 pathway. *Int J Mol Med*. 2006;17:811-9. ISSN:1107-3756 (Print); 1791-244X (Online). Impact Factor: 2.088.
21. Lauricella M, Emanuele S, D'Anneo A, Calvaruso G, Vassallo B, **Carlisi D**, Portanova P, Vento R, Tesoriere G. JNK and AP-1 mediate apoptosis induced by bortezomib in HepG2 cells via FasL/caspase-8 and mitochondria-dependent pathways. *Apoptosis*. 2006;11:607-25. 1360-8185 (Print) 1573-675X (Online). Impact Factor: 3.685.

Capitoli di libro

1. **Carlisi D**, Angileri L, Lauricella M. (2008) Identification of Protein Complexes by Coimmunoprecipitation (108-118) in " Quaderni del Dottorato di Ricerca in Oncobiologia Sperimentale: Tecniche e Procedure di Ricerca. EDs. D.Carlisi, R. Di Fiore, P.Portanova, G. Tesoriere. PALERMO: Edizioni Compostampa (ITALY). ISBN 978-88-903912-2-4.
2. La Sala D, Emanuele S, **Carlisi D**. (2008). c-DNA Microarray Analysis (201-226) in " Quaderni del Dottorato di Ricerca in Oncobiologia Sperimentale: Tecniche e Procedure di Ricerca. EDs. D.Carlisi, R. Di Fiore, P.Portanova, G. Tesoriere. PALERMO: Edizioni Compostampa (ITALY). ISBN 978-88-903912-2-4.

Articoli in extenso su Atti di Congresso Nazionali

1. Lauricella M, Emanuele S, **Carlisi D**, Tesoriere G. (2006). SAHA induces acetylation of p53 and histones in human hepatoma HepG2 cells. In: New perspectives in tumor therapy: molecular aspects, 2006. Convegno Annuale dell'Associazione Italiana di Colture Cellulari (AICC). Palermo. 14-15 Dicembre 2006. (pp. 15-21). ISBN/ISSN: 978-88-902866-0-5. PALERMO: Edizioni Compostampa (ITALY).

Curatele

1. **Carlisi D**, Di Fiore R, Portanova P, Tesoriere G. (2008). Quaderni del Dottorato di Ricerca in Oncobiologia Sperimentale: Tecniche e Procedure di Ricerca. (vol. 1, pp. 1-287) ISBN: 978-88-903912-2-4. PALERMO: Edizioni Compostampa (ITALY).

Abstract presentati a Congressi Nazionali ed Internazionali

1. G. Buttitta, **D. Carlisi**, R. Di Fiore, C. Scerri, R. Vento, G. Tesoriere. The cytotoxic effect exerted by parthenolide and DMAPT on breast cancer stem-like cells. 3° Meeting Biotecnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 17–18 Dicembre 2015.
2. R. Drago-Ferrante, R. Di Fiore, F. Pentimalli, D. Di Marzo, I.M. Forte, **D. Carlisi**, A. De Blasio, G. Tesoriere, A. Giordano, R. Vento. Janus-Faced role of microRNA let-7d in osteosarcoma 3AB-OS cancer stem cells. 3° Meeting Biotecnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 17–18 Dicembre 2015.
3. A. De Blasio, R. Di Fiore, M. Morreale, M. Montalbano, **D. Carlisi**, R. Vento. Non-canonical roles of caspase-8 in MDA-MB231 breast cancer cell line. 3° Meeting Biotecnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 17–18 Dicembre 2015.
4. M. Lauricella, **D. Carlisi**, M. Giuliano, G. Calvaruso, C. Cernigliaro, A. D'Anneo. Possible regulatory mechanisms responsible for the high expression of serpin protease inhibitor PI-9 in ER+-derived breast cancer stem cells. 3° Meeting Biotecnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 17–18 Dicembre 2015.
5. R. Di Fiore, R. Drago-Ferrante, F. Pentimalli, D. Di Marzo, I.M. Forte, **D. Carlisi**, A. De Blasio, G. Tesoriere, A. Giordano, R. Vento. In human osteosarcoma 3AB-OS cancer stem cells let-7d seems to have the dualfunction of oncogene/tumor-suppressor miRNA. 58° National Meeting of the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology-Urbino-14-16 September 2015.
6. M. Lauricella, **D. Carlisi**, M. Giuliano, G. Calvaruso, R. Vento, A. D'Anneo. ER+-derived breast cancer stem cells reveal a high expression of the serpin protease inhibitor PI-9. 58° National Meeting of the Italian Society

7. **D. Carlisi**, A D'Anneo; M. Lauricella, G. Buttitta, S. Emanuele, R. Martinez, R. Vento, G. Tesoriere. The HDAC inhibitor SAHA synergistically stimulates the cytotoxic effect induced by Parthenolide in MDA-MB231 cells. XIII FISV Congress, 24-27 settembre 2014.
8. **D. Carlisi**, A D'Anneo; M. Lauricella, G. Buttitta, S. Emanuele, R. Martinez, G. Tesoriere. The synergistic effect exerted by the HDAC inhibitor SAHA and the sesquiterpene lactone parthenolide on triple negative breast cancer cells. Meeting Biotecnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 26-27 Giugno 2014.
9. 3. A. D'Anneo, M. Lauricella, **D. Carlisi**, S. Emanuele, G. Buttitta, R. Vento, G. Tesoriere. Synergistic effect of the HDAC inhibitor SAHA and the sesquiterpene lactone parthenolide in triple negative breast cancer cells. 27th Annual Conference of Italian Association of Cell Cultures. 12-14 Novembre 2014.
10. **D. Carlisi**, A. D'Anneo, M. Lauricella, R. Martinez, S. Emanuele, R. Puleio, S. Di Bella, P. Di Marco, G. Buttitta, R. Di Fiore, A. Guercio, R. Vento, G. Tesoriere. Il partenolide stimola la produzione di ROS ed autofagia in cellule di carcinoma mammario MDA-MB231. Il suo analogo solubile DMAPT inibisce la crescita e le metastasi di xenotrapianti di tumori mammari. Meeting Biotecnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 27-28 Giugno 2013.
11. M. Lauricella, A. D'Anneo, **D. Carlisi**, S. Emanuele, G. Buttitta, R. Martinez, R. Di Fiore, R. Vento, G. Tesoriere. Parthenolide induces EGF receptor phosphorylation and superoxide anion production in MDA-MB231 breast cancer cells. 57° National Meeting of the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology-Ferrara-18-20 September 2013.
12. **D. Carlisi**, A. D'Anneo, M. Lauricella, S. Emanuele, R. Martinez, G. Buttitta, R. Vento, G. Tesoriere. Synergistic cytotoxic interaction of the HDAC inhibitor SAHA with the natural compound parthenolide in MDA-MB231 breast cancer cells. 57° National Meeting of the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology-Ferrara-18-20 September 2013.
13. Carlisi D, D'anneo A, Lauricella M, Emanuele S, Martinez R, Vento R, Tesoriere G. (2012). Parthenolide induces caspase-independent cell death in osteosarcoma, melanoma and breast cancer cells through the induction of oxidative stress. In: 56 National meeting of the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology. Vol.56, 188, 2012 Chieti-26-29 September 2012.
14. D'anneo A, **Carlisi D**, Lauricella M, Emanuele S, Martinez R, Tesoriere G. Parthenolide induces caspase-independent cell death mediated by AIF in osteosarcoma and melanoma cells. 25° Convegno Annuale dell'Associazione Italiana di Colture Cellulari (ONLUS-AICC) 3rd International Satellite Symposium AICC-GISM Palermo, 21-23 Novembre 2012, p.16
15. Lauricella M, **Carlisi D**, D'anneo A, Di Bella S, Emanuele S, Martinez R, Buttitta G, Tesoriere G. Evaluation of the in vitro and in vivo antineoplastic effects of Parthenolide on MDA-MB231 breast cancer cells. 25° Convegno Annuale della Associazione Italiana di Colture Cellulari (ONLUS - AICC)- 3rd- International Satellite Symposium AICC-GISM Palermo, 21-23 Novembre 2012, p.58.
16. **Carlisi D**, Emanuele S, D'anneo A, Lauricella M, Angileri L, Vento R, Tesoriere G. (2010). Anti-tumor action of the natural compound parthenolide. The 15th World Congress on Advances in Oncology and 13th International Symposium on Molecular Medicine. Loutraki, Greece 7-9 October, 2010 In: *International Journal of Molecular Medicine Vol. 26, S233, 2010*. ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).
17. Emanuele S, **Carlisi D**, D'anneo A, Lauricella M, Martinez R, Vento R, Tesoriere G. (2011) The mechanism of parthenolide-induced cell death in tumor cell lines. The 16th World Congress on Advances in Oncology and 14th International Symposium on Molecular Medicine. Rhodes Island, Greece 6-8 October, 2011 In: *International Journal of Molecular Medicine Vol. 28, S191, 2011*. ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).

18. Emanuele S, D'anneo A., **Carlisi D**, Lauricella M, Martinez R, Vento R, Tesoriere G. Parthenolide induces caspase-independent and AIF mediated cell death in tumor cells. The 17th World Congress on Advances in Oncology, and 15th International Symposium on Molecular Medicine Creta 11-13 Ottobre 2012 In: *International Journal of Molecular Medicine* (pp.S40, 243). ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).
19. Carlisi D, Emanuele S, D'Anneo A, Lauricella M, Angileri L, Vento R, Tesoriere G. (2010). Anti-tumor action of the natural compound parthenolide. The 15th World Congress on Advances in Oncology and 13th International Symposium on Molecular Medicine. Loutraki, Greece 7-9 October, 2010 In: *International Journal of Molecular Medicine* Vol. 26, S233, 2010). ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).
20. **Carlisi D**, Emanuele S, Angileri L, D'Anneo A, Ciraolo A, Montalbano R, Vento R, Tesoriere G (2009). Il Parthenolide sensibilizza le cellule di epatocarcinoma all'apoptosi indotta da TRAIL. Convegno annuale della Associazione Italiana di Colture Cellulari. Firenze, 2-4 dicembre.
21. Lauricella M, **Carlisi D**, D'Anneo A, Angileri L, Montalbano R, Ciraolo A, Emanuele S, Vento R, Tesoriere G (2009). Synergistic interaction between Parthenolide and TRAIL induces apoptosis in human hepatocarcinoma cells.. 54° Congresso Nazionale della Società Italiana di Biochimica. e Biologia Molecolare Catania, 23-27 Settembre 2009 (pp.204).
22. Emanuele S, D'Anneo A, **Carlisi D**, Lauricella M, Angileri L, Ciraolo A, Montalbano R, Vento R, Tesoriere G. (2009). Parthenolide sensitizes human hepatocarcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis. The 14th World Congress on Advances in Oncology and 12th International Symposium on Molecular Medicine. Loutraki, Greece 15-17 October, 2009 In: *International Journal of Molecular Medicine* (pp.337). ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).
23. **Carlisi D**, D'Anneo A, Lauricella M, Emanuele S, Di Fazio P, Angileri L, Russo T, Montalbano R, Vento R, Tesoriere G. (2008). The mechanism by which histone deacetylase inhibitors sensitize hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis. 53° Congresso Nazionale della Società Italiana di Biochimica. e Biologia Molecolare Riccione. 23-26 Settembre 2008. (16.9). ISBN: 978-88-8453-820-8.
24. Emanuele S, Lauricella M, D'Anneo A, **Carlisi D**, Di Fazio P, Di Leonardo E, Oliveri M, Rocca L, Vento R, Tesoriere G. Histone deacetylase inhibitors sensitize hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis. 50th Annual meeting of the Italian Cancer Society. Napoli 6/9 October. p.8, 2008.
25. Emanuele S., Lauricella M., D'Anneo A., **Carlisi D.**, Di Fazio P., Di Leonardo E, Angileri L, Ciraolo A, Vento R, Tesoriere G. The sensitization on HepG2 and HT29 cells to TRAIL-induced apoptosis by histone deacetylase inhibitors is mediated by down-regulation of Akt and NF- κ B. The 13th World Congress on Advance in Oncology and 11th International Symposium on Molecular Medicine. Creta. 9-11 Ottobre 2008 in: *International Journal of Molecular Medicine*, vol. 20, pp. S319, 2008. ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).
26. Lauricella M., **Carlisi D**, Vassallo B, D'Anneo A, Emanuele S, Angileri L, Capurro O, Vento R, Tesoriere G. The apoptotic effect induced in HepG2 cells by inhibitors of histone deacetylases is correlated with acetylation of p53 and histones. 52° Congresso Nazionale della Società di Biochimica e Biologia Molecolare. Riccione. 26-28 Settembre 2007. in: *The Italian Journal of Biochemistry*, vol. 56, pp. 202, 2007. ISBN/ISSN: 0021-2938. MILANO: BIOMEDIA s.r.l. (ITALY).
27. Emanuele S, Lauricella M., D'Anneo A, **Carlisi D**, Vassallo B, Di Fazio P, Di Leonardo E, Vento R, Tesoriere G. Histone deacetylase inhibitors: Epigenetic drugs acting by pleiotropic apoptotic mechanism in tumor cells and highly potent in combination with other antitumor agents. The 12th World Congress on Advance in Oncology and 10th International Symposium on Molecular Medicine. Creta. 11-13 Ottobre 2007. in: *International Journal of Molecular Medicine*, vol. 20, pp. S319, 2007. ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).
28. D'Anneo A, Lauricella M., Emanuele S, Carlisi D, Vassallo B, Vento R, Tesoriere G. Role of the acetylation of p53 and histones in SAHA-induced apoptosis in human hepatoma HepG2 cells. The 12th World Congress on Advances in Oncology and 10th International Symposium on Molecular Medicine. Creta. 11-13 Ottobre 2007. in:

International Journal of Molecular Medicine. vol. 20, pp. S321, 2007. ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).

29. Emanuele S, Lauricella M., **Carlisi D**, D'Anneo A, Vassallo B, Di Fazio P, Vento R, Tesoriere G. The role of the extrinsic pathway of apoptosis in the effect induced by SAHA in human hepatoma cells. 51° Congresso Nazionale della Società di Biochimica e Biologia Molecolare. Riccione. 28-30 Settembre 2006. in: The Italian Journal of Biochemistry vol. 55(1-2), pp. 163, 2006. ISBN/ISSN: 0021-2938. MILANO: BIOMEDIA s.r.l. (ITALY).

30. Lauricella M., Emanuele S, D'Anneo A, **Carlisi D**, Vassallo B, Di Fazio P, Vento R, Tesoriere G. The apoptotic effect exerted in human hepatoma cells by the inhibitor of histone deacetylase SAHA either alone or in combination with bortezomib. 50° Congresso Nazionale della Società di Biochimica e Biologia Molecolare. Riccione. 27-30 Settembre 2005. in: The Italian Journal of Biochemistry vol. 54(1-2), pp. 201, 2005. ISBN/ISSN: 0021-2938. MILANO: BIOMEDIA s.r.l. (ITALY).

31. Lauricella M, Emanuele S, D'Anneo A, Vassallo B, **Carlisi D**, Portanova P, Calvaruso G, Vento R, Tesoriere G. JNK and AP-1 mediate apoptosis induced by Bortezomib in hepatoma HepG2 cells. 50° Congresso Nazionale della Società di Biochimica e Biologia Molecolare. Riccione. 27-30 Settembre 2005. in: The Italian Journal of Biochemistry vol. 54(1-2), pp. 200, 2005. ISBN/ISSN: 0021-2938. MILANO: BIOMEDIA s.r.l. (ITALY).

32. Emanuele S, Lauricella M., D'Anneo A, Vassallo B, **Carlisi D**, Calvaruso G, Giuliano M, Vento R, Tesoriere G. Synergistic apoptotic interaction between the HDAC inhibitor SAHA and the proteasome inhibitor bortezomib in human hepatoma cells. The 10th World Congress on Advances in Oncology and 8th International Symposium on Molecular Medicine. Hersonissos, Creta, Grecia. 13-15 Ottobre 2005. in: International Journal of Molecular Medicine. vol. 16(1), pp. S44, 2005. ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).

33. Emanuele S, D'Anneo A, Lauricella M., Vassallo B, **Carlisi D**, Portanova P, Calvaruso G, Giuliano M, Vento R, Tesoriere G. The involvement of the c-Jun/JNK/AP-1 pathway and HSPs in apoptosis induced by the proteasome inhibitor PS-341 (Velcade) in human hepatoma cells. The 9th World Congress on Advances in Oncology and 7th International Symposium on Molecular Medicine. Hersonissos, Creta, Grecia. 14-16 Ottobre 2004. in: International Journal of Molecular Medicine vol. 14(1), pp. S37, 2004. ISBN/ISSN: 1107-3756. ATENE: D.A. SPANDIDOS (GREECE).

34. D'Anneo A, Vassallo B, **Carlisi D**, Lauricella M., Emanuele S, Vento R, Tesoriere G. Proteasome inhibitor Velcade induces apoptosis in hepatoma HepG2 cells stimulating both the extrinsic and the intrinsic apoptotic pathways. 49° Congresso Nazionale della Società di Biochimica e Biologia Molecolare. Riccione. 28 Settembre-1 Ottobre 2004. in: The Italian Journal of Biochemistry. vol. 53(3), pp. 362, 2004. ISBN/ISSN: 0021-2938. MILANO: BIOMEDIA s.r.l. (ITALY).

35. Lauricella M., Giuliano G, Bellavia G, **Carlisi D**, Calvaruso G, Vento R, Tesoriere G. Apoptotic effects of staurosporine in hepatic cell lines. 48° Congresso Nazionale della Società di Biochimica e Biologia Molecolare. Ferrara. 15-18 Settembre 2003. in: The Italian Journal of Biochemistry. vol. 52(3), pp. 369, 2003. ISBN/ISSN: 0021-2938. MILANO: BIOMEDIA s.r.l. (ITALY).

Comunicazioni orali

1. **D. Carlisi**, A D'Anneo; M. Lauricella, G. Buttitta, S. Emanuele, R. Martinez, G. Tesoriere. The synergistic effect exerted by the HDAC inhibitor SAHA and the sesquiterpene lactone parthenolide on triple negative breast cancer cells. Meeting Biotecnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 26-27 Giugno 2014.

2. **D. Carlisi**, A. D'Anneo, M. Lauricella, R. Martinez, S. Emanuele, R. Puleio, S. Di Bella, P. Di Marco, G. Buttitta, R. Di Fiore, A. Guercio, R. Vento, G. Tesoriere. Il partenolide stimola la produzione di ROS ed autofagia in cellule di carcinoma mammario MDA-MB231. Il suo analogo solubile DMAPT inibisce la crescita e le metastasi di xenotrapianti di tumori mammari. Meeting Biotechnologie: Ricerca di Base, Interdisciplinare e Traslazionale in ambito Biomedico, IBIM-CNR; Palermo 27–28 Giugno 2013.
3. **Carlisi D**, Emanuele S, Angileri L, D'Anneo A, Ciralo A, Montalbano R, Vento R, Tesoriere G (2009). Il Partenolide sensibilizza le cellule di epatocarcinoma all'apoptosi indotta da TRAIL. Convegno annuale della Associazione Italiana di Colture Cellulari. Firenze, 2-4 dicembre

AMBITI DI RICERCA

L'attività scientifica della Dott.ssa Carlisi ha riguardato prevalentemente l'individuazione dei meccanismi molecolari mediante i quali diversi composti esercitano la loro azione antitumorale. L'accertamento di tali meccanismi ha permesso, inoltre, di individuare combinazioni tra diversi composti efficaci nel determinare la morte di cellule tumorali. In particolare, l'attività di ricerca della Dott.ssa Carlisi ha riguardato le seguenti tematiche:

Effetti esplicati dagli inibitori del proteasoma

Gli inibitori del proteasoma costituiscono una classe di composti la cui attività antitumorale è stata ampiamente documentata. Tra gli inibitori del proteasoma è stato preso in esame il Bortezomib (Velcade), appartenente alla classe dei derivati dell'acido boronico, che trova impiego clinico nel trattamento di alcune forme tumorali. Gli studi sono stati condotti utilizzando come modello sperimentale le cellule HepG2, una linea di epatocarcinoma umano caratterizzata dall'alterazione della beta-catenina e dall'assenza della proteina Bcl-2.

Gli studi condotti hanno dimostrato che il Bortezomib induce morte per apoptosi nelle cellule di epatoma, risultando inefficace in cellule Chang liver. L'azione apoptotica del Bortezomib si realizza attraverso un meccanismo pleiotropico che vede l'attivazione sia del pathway estrinseco che intrinseco dell'apoptosi. Un ruolo chiave nel controllo del meccanismo apoptotico è esplicato dall'attivazione del fattore di trascrizione AP-1, responsabile dell'induzione sia di fattori di sopravvivenza quali Hsp70 e Hsp27, che di fattori proapoptotici, quali c-Jun, FasL e Bim. Un aspetto di rilievo è dato dal fatto che allo stesso tempo il bortezomib induce effetti antiapoptotici, incrementando il livello di alcuni fattori di sopravvivenza quali le proteine da shock termico Hsp-70 e -27 o la chinasi Akt. Obiettivo degli studi condotti è stato, pertanto, quello di potenziare l'azione del bortezomib, associandolo a composti in grado di contrastare gli eventi antiapoptotici dallo stesso indotti. *Apoptosis 2006*

Effetti indotti dagli inibitori delle deacetilasi istoniche. Interazione sinergica tra SAHA e l'inibitore del proteasoma bortezomib

Gli inibitori delle deacetilasi istoniche (HDAC) sono agenti antitumorali molto promettenti grazie alla loro capacità di indurre morte di diverse cellule tumorali, manifestando allo stesso tempo scarsa efficacia su cellule normali. Tra gli inibitori delle deacetilasi istoniche è stata posta attenzione al SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid). Questo composto è attivo su cellule di carcinoma epatocellulare umano HepG2 e HuH6 ma non mostra effetti su epatociti primari umani (PHH). E' stato possibile dimostrare che il composto stimola il pathway estrinseco dell'apoptosi, incrementando l'espressione del recettore di morte APO1/FAS e del FAS Ligand con conseguente attivazione della caspasi-8 e frammentazione di Bid. Inoltre, il SAHA induce variazioni nei livelli dei membri della famiglia Bcl-2 a favore dei fattori pro-apoptotici, determinando, quindi, anche il coinvolgimento del pathway intrinseco.

Questi studi hanno anche dimostrato che l'azione apoptotica del SAHA è potenziata in modo sinergico dall'aggiunta del Bortezomib. Il trattamento combinato determina aumento nei livelli di c-Jun, phospho-c-Jun, Fas Ligand e Bcl-Xs. Questi effetti sono accompagnati dall'attivazione di Bid, caspasi-8 e caspasi-3. *Apoptosis 2007*

Altri studi condotti impiegando diversi inibitori delle HDAC (SAHA, Tricostatina ed ITF2357) hanno dimostrato che la p53 e gli istoni esplicano un ruolo importante nell'induzione dell'apoptosi da parte di tali inibitori. I risultati ottenuti suggeriscono, infatti, che il trattamento di cellule di epatoma con diversi inibitori delle HDAC induce una rapida acetilazione di p53 e degli istoni e la formazione di complessi costituiti dalle forme acetilate di p53 e degli istoni con le acetiltrasferasi p300 e PCAF. Questi complessi eserciterebbero un ruolo fondamentale di coordinamento molecolare nell'induzione del meccanismo apoptotico da parte degli inibitori delle deacetilasi istoniche. *Int J Oncol 2008*

Sensibilizzazione all'azione apoptotica indotta da TRAIL da parte degli inibitori delle deacetilasi istoniche

Studi su cellule di epatocarcinoma

TRAIL è un membro della famiglia di ligandi, correlati con il TNF, in grado di indurre apoptosi in cellule che esprimono appropriati recettori di morte associati alla membrana (DR4 e DR5); esercita la sua azione apoptotica specificatamente su cellule tumorali, mentre le cellule normali risultano normalmente resistenti. Inoltre, cellule tumorali che manifestano resistenza al segnale TRAIL possono essere sensibilizzate mediante impiego di composti di varia natura.

Gli studi condotti hanno evidenziato che gli inibitori delle deacetilasi istoniche (SAHA, ITF2357 e Tricostatina A) sono in grado di sensibilizzare cellule di epatocarcinoma in coltura al segnale TRAIL, inducendo morte per apoptosi in maniera sinergica. La sensibilizzazione al segnale TRAIL è correlata con l'aumentata espressione dei recettori di morte DR4 e DR5 e con la down-regulation del fattore anti-apoptotico c-Flip; ciò determina la produzione del DISC e la conseguente attivazione della caspasi-8. La sensibilizzazione indotta dagli HDACI al segnale TRAIL è data, inoltre, dalla caduta dei fattori di sopravvivenza Akt e NF- κ B e dall'attivazione delle caspasi 9 e 3. *Eur J Cancer 2009*

Studi su cellule di carcinoma mammario

Le cellule di carcinoma mammario definito triplo-negativo mancano dei recettori per estrogeni, progestinici e HER2/neu e danno luogo a forme tumorali aggressive e poco sensibili alla terapia ormonale. Il trattamento convenzionale (chirurgia, radioterapia e chemioterapia combinate) assicura una buona risposta iniziale, ma presenta un alto tasso di recidive. Le cellule MDA-MB231, rappresentano la linea cellulare più studiata ottenuta da carcinoma mammario triplo-negativo. Tale linea cellulare mostra particolare resistenza all'azione del TRAIL, gli studi condotti hanno dimostrato che il SAHA, impiegato a dosi sub-tossiche, è in grado di sensibilizzarle al segnale TRAIL. Gli esperimenti sono stati eseguiti in parallelo su cellule MCF7, una linea di carcinoma mammario estrogeno-sensibile, anche questa resistente al segnale TRAIL.

Gli esperimenti condotti hanno evidenziato che il trattamento combinato SAHA/TRAIL induce il distacco delle cellule MDA-MB231 dal substrato, effetto non osservato trattando le cellule con i singoli composti; tale distacco è contrastato dall'aggiunta dello IETD, un inibitore specifico della caspasi-8, suggerendo che tale caspasi possa rivestire un ruolo attivo nel determinare la perdita di adesione delle cellule dal substrato. Eventi simili indotti dalla combinazione SAHA/TRAIL sono stati osservati nelle MCF-7, ma la loro comparsa si è osservata dopo tempi più lunghi di trattamento. Gli esperimenti condotti hanno dimostrato che le cellule trattate con la combinazione SAHA/TRAIL vanno incontro ad apoptosi, tale effetto si manifesta successivamente al distacco cellulare. Questo meccanismo è tipico dell'anoikis, una forma di apoptosi che avviene in molte cellule normali dopo che si staccano dal proprio substrato.

Si è inoltre osservato che il trattamento combinato SAHA/TRAIL, in particolare nella popolazione di cellule che ha perso adesione al substrato, determina decremento dei livelli dei fattori antiapoptotici c-FLIPL e c-FLIPS.

Tali risultati suggeriscono l'impiego della combinazione SAHA/TRAIL nelle forme di carcinoma mammario prive del recettore per gli estrogeni (ER), le quali risultano insensibili alla terapia ormonale. Inoltre, tale trattamento potrebbe essere utile per le forme di carcinoma mammario che hanno sviluppato meccanismi di resistenza alla morte per anoikis, risultando così particolarmente aggressive e metastatiche. *Biochimie 2012*

Effetti indotti dal partenolide

Il partenolide (PN) è un sesquiterpene lattone di origine naturale estratto dal *Tanacetum Parthenium*, una pianta della famiglia delle Asteracee, diffusa nell'America Settentrionale ed in Europa, che nella medicina tradizionale trovava impiego nel trattamento di forme di reumatismo articolare e nella prevenzione delle cefalee. E' ormai noto da tempo che il PN è un potente antinfiammatorio, attivo anche su modelli sperimentali animali affetti da malattie invalidanti come l'artrite reumatoide ed il lupus eritematoso sistemico. E' stato, inoltre, osservato che il composto è efficace nel sopprimere, tanto in vitro che in animali da esperimento, la proliferazione di alcuni tipi di cellule tumorali, sia derivanti da tumori solidi che ematologici (carcinoma gastrico, polmonare, prostatico e mieloma multiplo), mentre determina effetti minimi nelle cellule non cancerose. Un limite all'efficacia in vivo del PN è dato dalla sua scarsa solubilità in acqua. Per ovviare a questo inconveniente è stato sintetizzato un analogo idrosolubile del PN, il diamminopartenolide (DMAPT), che ha mostrato efficacia antitumorale nei confronti di topi portatori di xenotrapianti di tumori umani. Il PN sembra essere un composto molto promettente in campo oncologico, tuttavia il meccanismo d'azione esplicito nelle cellule tumorali non è stato ancora chiaramente definito.

Studi su cellule di epatocarcinoma

Studi condotti su cellule di carcinoma epatocellulare hanno evidenziato che dosi sub-tossiche di partenolide sensibilizzano le cellule di epatocarcinoma HepG2, Hep3B e SK-Hep1 all'apoptosi indotta da TRAIL, mentre non sono stati osservati effetti in epatociti primari. Valutando l'indice di combinazione (CI), è stato evidenziato che esiste un'interazione sinergica tra PN e TRAIL nell'induzione dell'apoptosi. Gli studi hanno dimostrato che in tutte e tre le linee cellulari il PN, già impiegato da solo, incrementa i livelli sia del messaggero che della proteina DR5, mentre DR4 aumenta solo nelle HepG2 e nelle SK-Hep1. Analisi citofluorimetriche hanno evidenziato che il PN aumenta l'espressione di entrambi i recettori a livello di membrana cellulare. I risultati ottenuti hanno suggerito che gli effetti osservati sui recettori di morte possono essere correlati con variazioni della proteina STAT3. Tale fattore è attivo in seguito a fosforilazione su Tyr 705 da parte delle proteine della famiglia JAK. In seguito alla fosforilazione, STAT3 dimerizza e transloca nel nucleo, dove regola l'espressione genica. E' riportato in letteratura che STAT3 possa essere un regolatore negativo dell'espressione di DR5. I nostri studi hanno evidenziato che il PN riduce i livelli delle forme fosforilate attive di STAT3 e STAT5. Inoltre, il silenziamento di STAT3 potenzia l'effetto del PN sui recettori di morte, suggerendo, quindi, che STAT3 possa inibire trascrizionalmente DR4 e DR5. Si è inoltre evidenziato che il PN diminuisce, nelle tre linee di HCC studiate, i livelli delle forme fosforilate attive di JAK1 e JAK2. Quindi il PN, tramite l'inibizione dell'asse JAK-STAT, sensibilizza le cellule di epatocarcinoma all'apoptosi indotta da TRAIL aumentando l'espressione dei recettori di morte DR5 e DR4. I risultati ottenuti hanno indicato, inoltre, che il trattamento PN /TRAIL induce una rapida attivazione della caspasi-8, seguita dall'attivazione della caspasi-3.

Questo studio ha messo in evidenza come il PN sia attivo a dosi molto basse e suggerisce l'utilizzo del PN come nuovo agente chemioterapico in considerazione della sua efficacia nell'indurre morte selettivamente in cellule tumorali. *J Cell Physiol 2011*

Studi su cellule di osteosarcoma e melanoma

Allo scopo di caratterizzare il meccanismo d'azione del PN sono stati condotti degli studi sulle cellule MG63, una linea di osteosarcoma umano, e sulle SK-MEL-28, una linea di melanoma umano.

Questi studi hanno evidenziato che il PN induce un marcato effetto citotossico sia nelle cellule MG63 che nelle SK-MEL-28. L'effetto non viene annullato dall'aggiunta di inibitori delle caspasi, suggerendo un meccanismo di morte caspasi-indipendente. Gli esperimenti condotti hanno evidenziato che l'effetto citotossico si accompagna alla produzione di ROS; tale evento sembra sia conseguenza dell'attivazione di ERK 1/2 con conseguente attivazione della NADPH ossidasi. Gli esperimenti condotti hanno evidenziato che il PN induce nelle MG63 e nelle SK-Mel28 accumulo di Ca^{+2} intracellulare, caduta del GSH e dei gruppi tiolici, inibizione di NF- κ B, attivazione di JNK, distacco cellulare dal substrato e shrinkage cellulare. Tutti gli effetti descritti vengono annullati dall'aggiunta di N-acetilcisteina. L'incremento dei ROS favorisce la caduta del potenziale di membrana mitocondriale. Mediante analisi di microscopia a fluorescenza, utilizzando la doppia colorazione con Hoechst 33342 e ioduro di propidio (PI), si è evidenziato che il trattamento per 3-5h con PN, induce condensazione e frammentazione della cromatina mentre solo poche cellule risultano positive al PI. Prolungando il tempo di trattamento (5-15 h) si è osservato un incremento di cellule positive al PI, che si accompagna alla caduta di ATP. Ciò suggerisce che il PN induce necrosi cellulare. Si è inoltre osservata la traslocazione di AIF dal mitocondrio nel nucleo. Utilizzando siRNA specifici diretti contro AIF si è osservato che la "down-regulation" di AIF inibisce gli effetti del PN. Questi studi suggeriscono che AIF svolge un ruolo chiave nel meccanismo d'azione indotto dal PN, mentre non sembrano coinvolte le caspasi. *J Cell Physiol 2013*

Studi su cellule di retinoblastoma

Sebbene il retinoblastoma sia il tumore maligno intraoculare più comune dell'infanzia, attualmente non si dispone ancora di una valida terapia per contrastarne lo sviluppo. Vi è quindi la necessità di individuare nuove e valide strategie terapeutiche in questo campo. A tale scopo si è voluto valutare l'effetto dell'associazione di due composti naturali quali l'acido ocaico (Oka) ed il PN sulla linea di retinoblastoma umano Y79. Si è evidenziato per la prima volta che l'Oka induce apoptosi in maniera sinergica con il PN. Questo effetto si accompagna a caduta dei livelli di p-Akt, aumento di p53 e diminuzione di pS166-Mdm2 (si è utilizzato un anticorpo che riconosce Mdm2 fosforilato in serina 166). Si è, inoltre, dimostrato il coinvolgimento chiave di PTEN. In particolare si è osservato che il trattamento combinato Oka/PN determina un notevole aumento di PTEN e successivamente di p53. Ciò ha suggerito che PTEN possa essere responsabile dell'attivazione di p53. Sono stati pertanto condotti esperimenti utilizzando un siRNA specifico per PTEN. Si è osservato che in condizioni basali il silenziamento di PTEN induce l'aumento di p-Akt e di pS166-Mdm2 e la caduta di p53. Nelle cellule dove PTEN è stato silenziato il trattamento Oka/PN non riesce a ridurre i livelli p-Akt e pS166-Mdm2 e ad aumentare p53.

Si è infine evidenziato che il trattamento Oka/PN determina produzione di ROS e caduta di GSH. E' interessante notare che l'effetto citotossico dei due composti viene anticipato se il livello del GSH è decrementato mediante L-butathionine-[S,R]-sulfoximine (BSO). *Cancer Biol Ther 2013*.

Studi su cellule di carcinoma mammario

Allo scopo di individuare valide e innovative strategie terapeutiche per il carcinoma mammario definito "triplo-negativo" è stato valutato l'effetto del partenolide (PN) e del suo analogo solubile dimetilamminoparthenolide (DMAPT) nelle cellule MDA-MB231.

I risultati hanno dimostrato che PN e DMAPT determinano un marcato effetto citotossico su queste cellule, effetto che è indipendente dall'attivazione delle caspasi. L'effetto citotossico esercitato dai due composti è stato totalmente soppresso dall'N-

acetilcisteina (NAC), un potente antiossidante, suggerendo, pertanto, il coinvolgimento dello stress ossidativo nel meccanismo di morte attivato dal PN e dal DMAPT. A sua volta lo stress ossidativo determina deplezione dei gruppi tiolici e del glutatione, attivazione di JNK e caduta di NF-kB, in particolare della componente p65. Durante la prima fase di trattamento (1-8 h) la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) è responsabile della attivazione di un processo autofagico, evidenziato da un aumento dei livelli della beclina-1 e dalla conversione di LC3-I in LC3-II, nonché dalla positività delle cellule alla monodansilcadaverina. Si è, inoltre, osservato che i composti determinano aumento di RIP-1, effetto che si accompagna alla riduzione dei livelli della pro-caspasi 8, alla sua mancata attivazione e all'aumento di c-FLIP. Infine, il trattamento prolungato con PN o con DMAPT (5-20h) induce dissipazione del potenziale di membrana mitocondriale (evidenziato mediante colorazione con JC1) e comparsa di eventi necrotici (evidenziati mediante colorazione con ioduro di propidio).

Accanto agli studi in vitro sono stati condotti degli studi in vivo, in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico della Sicilia "A. Mirri" (Palermo), nei quali si è valutata l'efficacia del DMAPT in topi nudi portatori di tumori, ottenuti inoculando cellule MDA-MB231. Questi studi hanno permesso di evidenziare che il DMAPT determina significativa inibizione della crescita tumorale, incremento della sopravvivenza negli animali trattati e marcata riduzione dell'area polmonare interessata dalle metastasi. Dati di immunistochemica hanno, infine, rivelato che il trattamento con DMAPT riduce i livelli di NF-kB, MMP-2 e -9 e VEGF, mentre induce aumento di JNK fosforilata. *Cell death Dis* 2013.

E' stato condotto un accurato studio circa l'effetto esercitato dal PN sulle cellule di carcinoma mammario MDA-MB231 con lo scopo di precisare il meccanismo di produzione dei ROS.

Mediante analisi citofluorimetrica e microscopia a fluorescenza, utilizzando fluorocromi specifici, si è evidenziato che già nelle prime ore di trattamento (0-8h) il PN induce produzione di ROS. In particolare si ritiene che il PN determini rapidamente produzione di anione superossido ($O_2^{\bullet-}$), mediante attivazione della NADPH ossidasi (NOX), che viene successivamente convertito dalla superossido dismutasi 1 (SOD1) in perossido di idrogeno (H_2O_2). Ciò è dimostrato dall'osservazione che l'apocinina ed il diphenyleneiodonium (DPI), due inibitori della NOX, annullano la produzione di ROS. Gli esperimenti condotti hanno, inoltre, evidenziato che nella seconda fase di trattamento (8-16 h), il PN induce produzione di $O_2^{\bullet-}$ anche a livello mitocondriale. E' stato osservato che, in questa fase, il PN induce produzione anche di hRos, specie altamente reattive dell'ossigeno, rappresentate dal radicale idrossilico e dal perossinitrito. Tale evento è in stretta correlazione con la marcata riduzione della vitalità cellulare.

Gli studi condotti hanno, inoltre, evidenziato che il PN induce la fosforilazione del recettore EGF (fosfoGFR) a livello della Tyr1173. Tale evento si osserva già dopo 1 h di trattamento e raggiunge un picco tra 8 e 16 h. Questo effetto sembra essere una conseguenza della produzione di ROS, perché viene annullato dall'aggiunta del NAC. L'AG1478, un inibitore della chinasi per EGFR, blocca la fosforilazione di EGFR e la produzione di $O_2^{\bullet-}$. Queste osservazioni suggeriscono che il meccanismo indotto dal PN si basa sulla creazione di un feedback positivo che attraverso il coinvolgimento del EGFR sostiene l'attivazione della NOX e la produzione di ROS. *Int. J. Oncol* 2013, *Oncol Rep* 2014.

Gli studi sopra descritti sono stati condotti impiegando il PN alla concentrazione di 25 μ M. Allo scopo di aumentare l'effetto del PN e diminuirne le dosi, sono stati condotti degli studi associando al PN il SAHA, un potente inibitore delle deacetilasi istoniche. I risultati ottenuti mostrano che il SAHA sensibilizza le cellule MDA-MB231 all'effetto citotossico del PN.

In particolare, si è osservato che il trattamento col solo PN stimola la sopravvivenza inducendo la via di Akt/mTOR e la traslocazione nucleare di Nrf2, mentre il SAHA induce attivazione del meccanismo autofagico. Quando le MDA-MB231 vengono trattate con la combinazione SAHA/PN, il SAHA annulla l'effetto del PN su Akt/mTOR e su Nrf2, mentre il PN spegne il segnale di sopravvivenza autofagico del SAHA. Inoltre, gli esperimenti condotti hanno evidenziato che la combinazione SAHA/PN induce deplezione di GSH, caduta del potenziale di membrana mitocondriale, con conseguente rilascio del citocromo c, attivazione della caspasi-3 e apoptosi. Infine, il trattamento combinato mantiene l'iperacetilazione degli istoni H3 e H4 indotta dal SAHA e la riduzione dei livelli DNMT1 e l'inibizione dell'attività di legame al DNA di NF-kB indotti dal PN. *J. Cell. Physiol.* 2015.

Di recente la Dott.ssa Carlisi si è dedicata alla preparazione di cellule staminali tumorali da carcinoma mammario per valutare gli eventuali effetti esercitati dal PN su di esse.

Le cellule staminali tumorali, pur rappresentando una piccola parte della popolazione delle cellule tumorali, mostrano elevata tumorigenicità e danno recidive, essendo capaci di ricreare tutti i genotipi cellulari del tumore. Queste cellule sono state individuate in un vasto numero di tumori solidi, compreso il carcinoma mammario.

Studi condotti recentemente hanno dimostrato che il PN ed il suo analogo solubile DMAPT esercitano un potente effetto citotossico su cellule staminali tumorali ottenute dalla dissociazione di mammosfere derivate da tre diverse linee di carcinoma del seno triplo-negativo (MDA-MB231, BT20 e MDA-MB436). In particolare, si è evidenziato che il PN ed il DMAPT sono in grado di ridurre la vitalità delle "stem-like cells" e delle cellule parentali. Questo effetto viene soppresso dal NAC. Ciò suggerisce un ruolo dei ROS nell'indurre l'effetto citotossico, mentre lo z-VAD, un inibitore generale dell'attività delle caspasi, non è in grado di annullare tale effetto. Uno studio approfondito sulla produzione dei ROS, eseguito utilizzando fluorocromi specifici, ha dimostrato che entrambi i composti inducono nelle "stem-like cells", dopo breve periodo di trattamento (1-2h) produzione di H₂O₂. Tale evento è, in parte, conseguenza dell'attivazione della NOX, poiché è stato ridotto dall'aggiunta di apocinina e DPI. Inoltre, sia il PN che il DMAPT, determinano in tale periodo riduzione dei livelli di Nrf2. Prolungando il tempo di trattamento con i composti (12-24h) si osserva la produzione di O₂^{•-} e di hROS, in concomitanza con la caduta di MnSOD e catalasi. In questa fase si ha anche dissipazione del potenziale di membrana mitocondriale e necrosi delle "stem-like cells". L'azione tossica del PN e del DMAPT nelle "stem-like cells" è dovuta quindi ad una rapida stimolazione dello stress ossidativo cellulare che determina, in una fase successiva, depolarizzazione del mitocondrio e necrosi. I risultati ottenuti sono di particolare interesse perché sono i primi ottenuti su cellule staminali derivate da carcinoma mammario triplo-negativo ed individuano nel PN e nel DMAPT una valida strategia terapeutica per tali forme tumorali. *Cell Death Dis. Submitted.*

L'osteosarcoma (OS) è il più comune tipo di cancro alle ossa, con un picco di incidenza nei primi anni dell'infanzia. E' un tumore altamente aggressivo e metastatico, che mostra resistenza alla terapia e da origine a recidive. Queste ultime due caratteristiche probabilmente dipendono dalle cellule staminali tumorali (CSC), che detengono sia il potenziale di auto-rinnovamento che quello di malignità.

Sono stati condotti degli studi per accertare la potenzialità differenziativa delle cellule 3AB-OS. Le 3AB-OS sono cellule staminali cancerose ottenute nel nostro laboratorio dalle cellule di osteosarcoma MG63 dopo trattamento prolungato con 3-aminobenzamide (100 giorni). Si è osservato che tali cellule sono in grado di differenziarsi in vitro in tipi cellulari derivanti dall'endoderma, mesoderma e ectoderma, suggerendo un grado di staminalità simile a quelle delle cellule pluripotenti. Il differenziamento cellulare è stato accertato tanto a livello morfologico, che molecolare e funzionale. *Stem Cell Discovery 2013.*

Una linea cellulare per essere definita "staminale tumorale" deve possedere potenzialità tumorigenica. Per tale motivo, sono stati condotti degli studi per valutare se le cellule 3AB-OS posseggono questa caratteristica, utilizzando comparativamente le cellule parentali MG63. Le cellule MG63 e 3AB-OS sono state inoculate sottocute in topi nudi atimici (Fox1nu/nu). I risultati ottenuti hanno dimostrato che le cellule MG63 non sono capaci di sviluppare tumori, mentre le cellule 3AB-OS sono altamente tumorigeniche. Tali esperimenti sono stati condotti in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo. *J. Cell. Physiol 2013.*

Tali studi sono continuati allo scopo di trovare dei target terapeutici per uccidere le CSC.

L'attenzione si è focalizzata sull'oncosoppressore p53 che in molte forme tumorali è mutato, acquisendo "guadagni di funzione" (GOF), che contribuiscono all'insorgenza della malignità. Le 3AB-OS possiedono p53 mutata (p53-R248W / P72R). Gli studi condotti hanno evidenziato che la soppressione della p53 mutata, mediante impiego di siRNA, inibisce nelle 3AB-OS la crescita, la replicazione cellulare, i livelli dei fattori che inducono staminalità ed invasività ed, inoltre, le sensibilizza all'apoptosi indotta da TRAIL. *Bone 2014.*

Di recente, si è evidenziata l'importanza dei microRNA (miRNA) nello sviluppo di diverse forme tumorali, incluso l'osteosarcoma, e nel mantenimento del fenotipo delle CSC. Per tale motivo si è voluto approfondire lo studio di specifici miRNAs nelle 3AB-OS. In precedenza, durante la caratterizzazione di cellule 3AB-OS, è stato evidenziato che in tali cellule miR-29b e let-7d sono "down-regolati". Si è voluto valutare, pertanto, l'effetto dell'over-espressione di miR-29b-1 o let-7d nelle 3AB-OS dopo trasfezione stabile. Tali esperimenti hanno consentito di evidenziare che l'over-espressione di miR-29b-1 o di let-7d induce nelle 3AB-OS la riduzione della crescita in coltura e la capacità di formare sarcosfere e colonie. Inoltre, l'iper-espressione di miR-29b-1 sensibilizza le 3AB-OS all'apoptosi indotta da chemioterapici (doxorubicina, cisplatino, etoposide). Si è visto che la presenza di miR-29b-1 induce nelle 3AB-OS la riduzione dei più importanti marcatori di staminalità (Oct3/4, Sox2, Nanog, CD133 e N-Myc), ciclo cellulare (CCND2, E2F1, E2F2), e anti-apoptotici (Bcl-2 e IAP-2).

L'over-espressione di let-7d ha determinato riduzione degli attivatori del ciclo cellulare (CCND2, E2F2) e aumento di p21 e p27 con conseguente inibizione della proliferazione cellulare. La presenza di let-7d ha diminuito l'espressione dei geni della staminalità (Oct3 / 4, Sox2, Nanog, Lin28B e HMGA2) e indotto la transizione epitelio-mesenchima. Gli studi condotti hanno evidenziato che l'over-espressione di let-7d induce nelle 3AB-OS capacità migratorie e invasive, aumentando MMP9, CXCR4 e VersicanV1. Inoltre, let-7d riduce la sensibilità delle cellule all'apoptosi, indotta sia da privazione di siero che da chemioterapici, causando decremento della caspasi-3 e aumento di Bcl2.